

CIAg Abeilles

Impacts des pesticides chez l'abeille

Performances des colonies

Relations « Abeilles et plantes »

► Mardi 15 novembre 2016



Impact des pesticides chez les larves : développement d'une méthode innovante pour le renforcement réglementaire

Pierrick Aupinel, UE 1255 Entomologie, INRA, Centre Poitou-Charentes

Pourquoi évaluer la toxicité sur larves ?

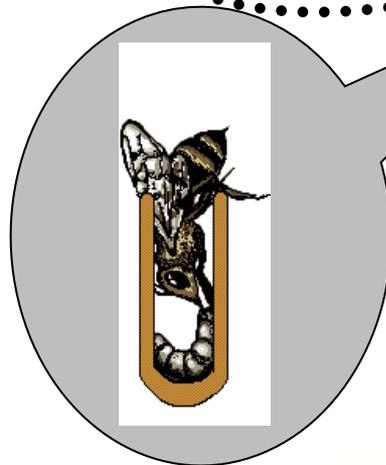


*Collecte de nectar
ou pollen par les butineuses*

*Transfert dans la
colonie pour stockage*



*Reprise par les
nourrices pour
le nourrissage
des larves*



**Exposition potentielle
avec du nectar ou du
pollen contaminés
2 à 5 mg pollen/larve
140 mg miel/larve**

Méthode recommandée par l'union européenne

Oomen et al. (1992)

Colonie en extérieur

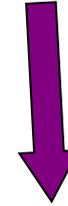


Variations
environnementales
Incontrôlées (climat,
végétation...)



Possibilité de stockage du produit
testé au lieu d'être ingéré par les larves

Absence de contrôle de la quantité
de produit ingéré par les larves (exposition ?)



Mauvaise
reproductibilité

Méthode *in vitro* existantes

De nombreuses publications :

Weaver (1955)

Wittmann and Engels (1981)

Rembold and Lackner (1981)

Vandenberg and Shimanuki (1987)

Davis et al. (1988)

Czoppelt (1990)

Peng et al. (1992)

Brodsgard et al. (1998)

Malone et al. (2002)

...

Critiques généralement émises
contre les méthodes *in vitro* :

- Problèmes de standardisation
(requiert des compétences très
spécifiques)

-Variation de la qualité de l'aliment
liée à l'utilisation de la gelée royale

- Forte mortalité dans les lots témoins

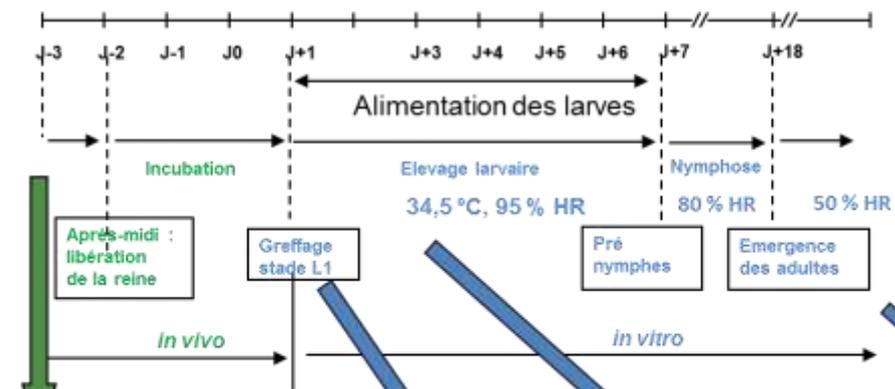
Objectif des travaux conduits de 2004 à 2007 (financement FEAGA)

Élaborer un test destiné à évaluer les effets des produits phytosanitaires sur larves d'abeilles en conditions *in vitro*

Contraintes : méthode devant répondre à 3 critères

- Standardisation (facile à décrire et à mettre en œuvre)
- Sensibilité (révélatrice d'effets à court et moyen terme)
- Répétabilité (contrôle des facteurs de variabilité de la mortalité)

Principe de la méthode d'élevage in vitro



Nymphes



Encagement de la reine



Prélèvement des larves L1



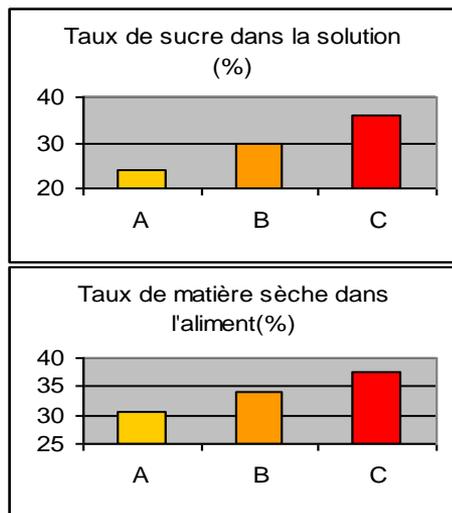
Alimentation des larves



Émergence des adultes

Composition de base de l'aliment:
50 % gelée royale +50% solution sucrée enrichie en extrait de levure

| jour | J1 | J2 | J3 | J4 | J5 | J6 |
|------------------|------------|-----------|------------|------------|------------|------------|
| aliment | A | | B | C | C | C |
| Volume/ larve | 20 μ l | 0 μ l | 20 μ l | 30 μ l | 40 μ l | 50 μ l |



Variation progressive
de la composition



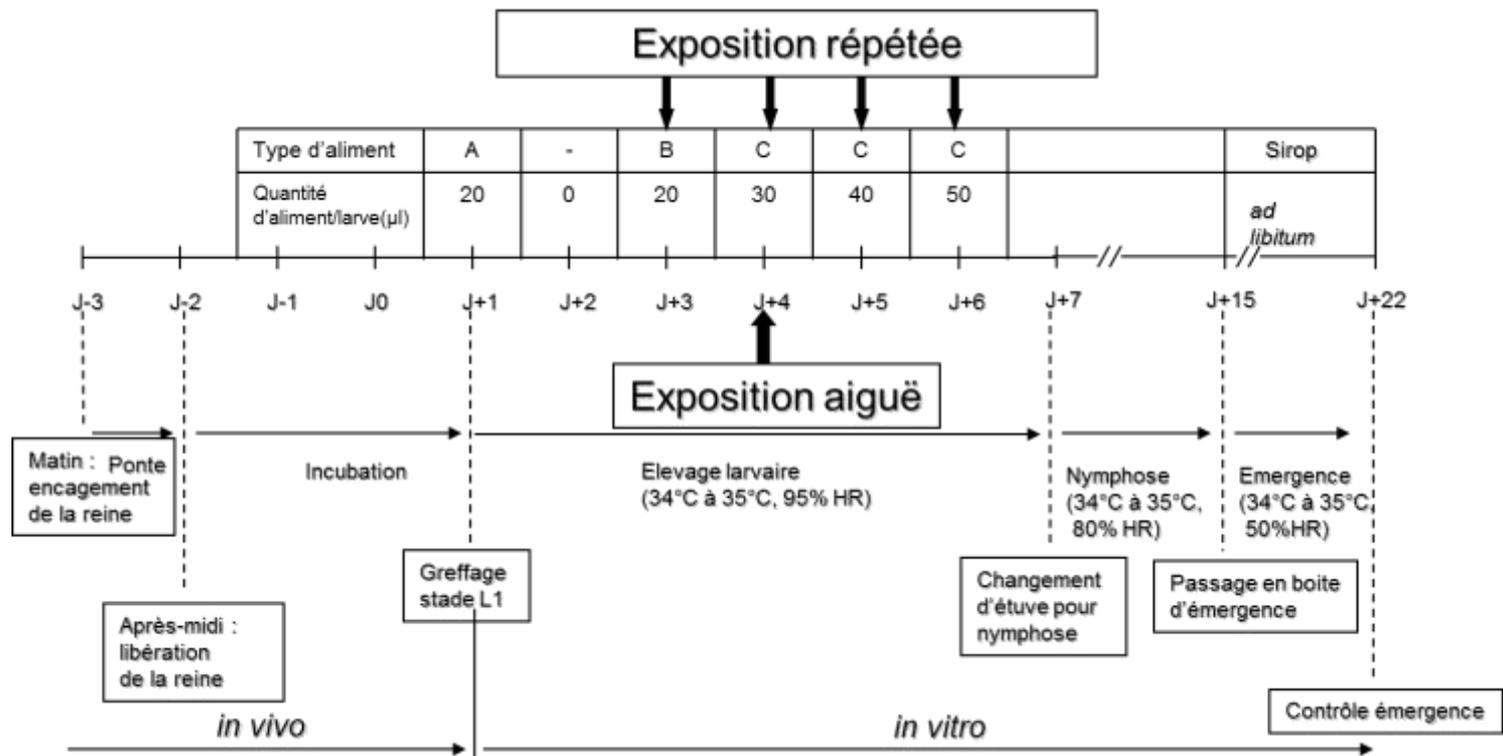
Amélioration du
taux d'émergence

(Aupinel et al., 2005)

Quantités pré déterminées
Total de 160 μ l d'aliment par larve



Homogénéisation
des poids



Reproductibilité de la méthode ?



Nécessité de conduire des tests inter laboratoires pour juger de la stabilité de la méthode

1^{er} Test inter laboratoires 2008

7 partenaires, 5 pays

4 institutions gouvernementales :

 INRA Le Magneraud, France

 CRA-API, Italie

 Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra
Swiss Confederation

Federal Department
of Economic Affairs
Agroscope Liebefeld/Postaus
Research Station ALP

Agroscope Liebefeld,
Suisse

 Niedersächsisches Landesamt
für Verbraucherschutz
und Lebensmittelsicherheit

LAVES Institute,
Allemagne

1 prestataire

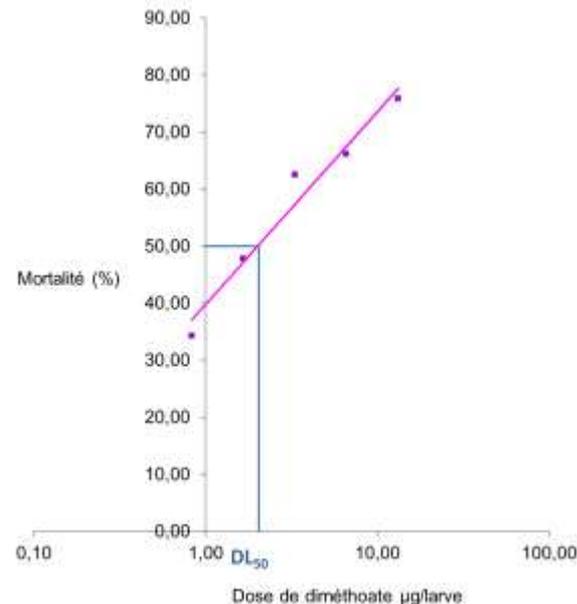
 RCC laboratories,
Suisse

1 université

 Université de
Graz, Autriche

1 firmes de l'industrie phyto

 Bayer Cropscience,
Allemagne

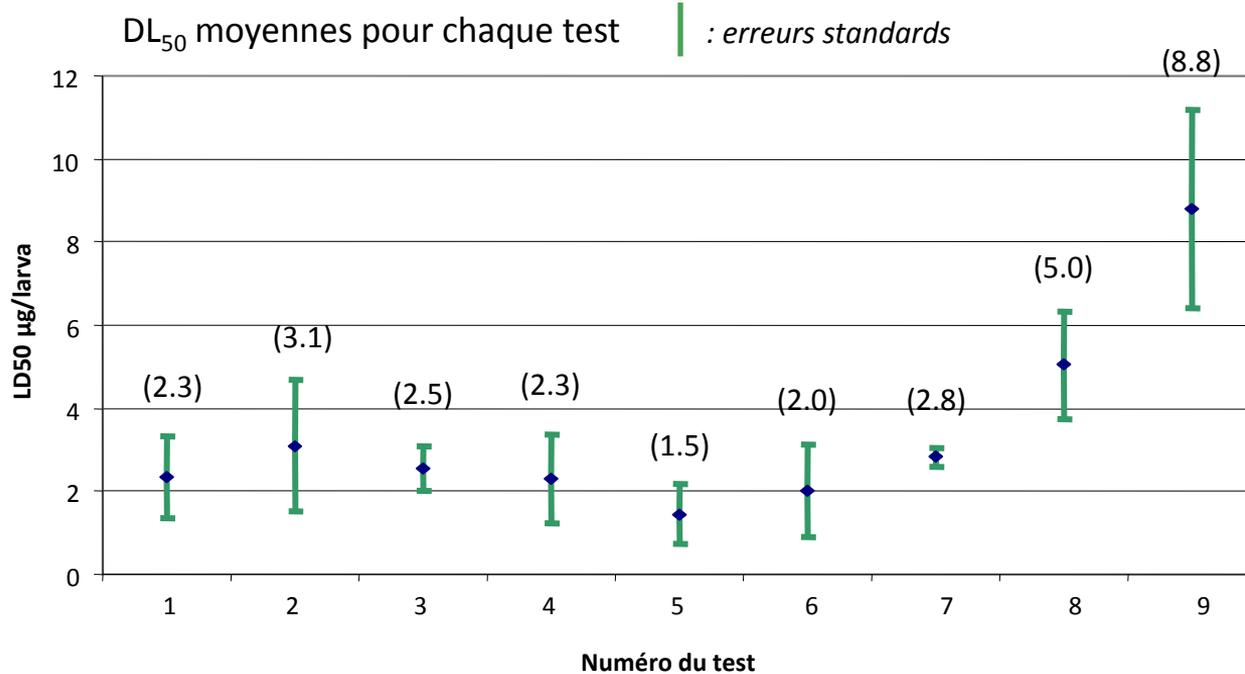


Principes

- Exposition **aigue** à J4 au diméthoate
- Estimation de la DL₅₀ à 48h



Résultats



Valeurs extrêmes : 1,5 à 8,8 µg/larve

hypothèse : non respect absolu des conditions climatiques d'élevage (DL_{50} 28 fois supérieure à 33°C par rapport à 35°C, Medrzycki et al (2010))

7 tests sur 9 : $2,3 < DL_{50} < 5$ (soit environ un facteur 2)

Valorisation du premier test inter laboratoires

Avril 2012 : présentation des résultats du test « exposition aigu » à l'OCDE

Juillet 2013 : publication de la ligne directrice OCDE TG237 pour le mode « exposition aigu »

Demande du groupe d'experts abeilles OCDE de mettre en place un nouveau test inter laboratoires afin de valider la méthode en mode « exposition répétée »

2^{ème} Test inter laboratoires 2014-2015

4 institutions gouvernementales :

 INRA Le Magneraud, France

 ANSES, France

 Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
LAVES Institute, Allemagne

 CRA-API, Italie

1 université :

 University of Graz, Autriche

2 firmes de l'industrie phyto:

 BAYER Crop Science AG, Allemagne

 BASF SE, Allemagne

13 participants
6 pays

6 prestataires :

 Biotechnologie BT S.r.l., Italie

 Eurofins Agrosience, Allemagne

 BioChem agrar GmbH, Allemagne

 Ibacon GmbH, Allemagne

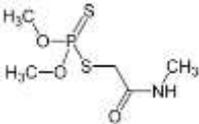
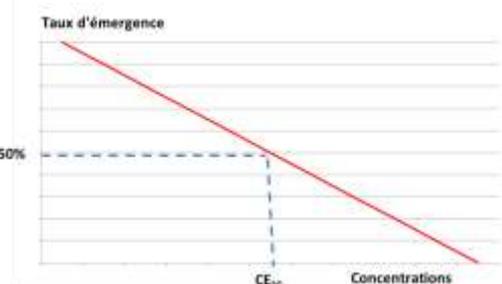
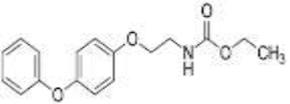
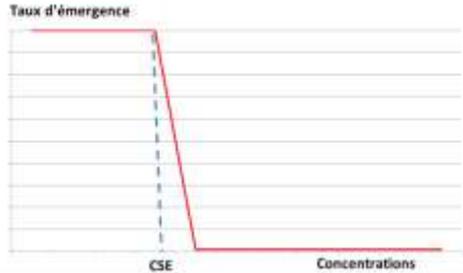
 IES, Suisse

 Ecotox Services Australasia, Australie

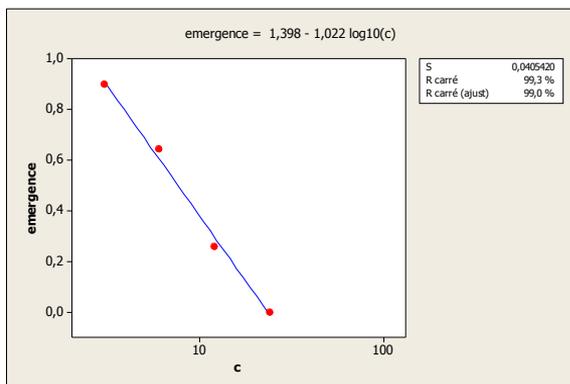
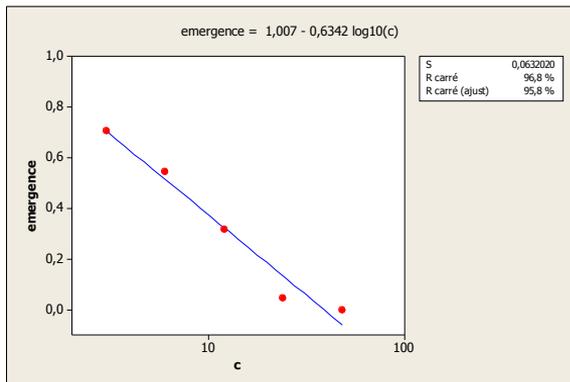
Principes

- Exposition **répétée** de J3 à J6 au diméthoate et au fénoxycarbe
- Estimation de la CE₅₀ et de la CSE à J22 sur le taux d'émergence
- Contrôle accru des conditions climatiques

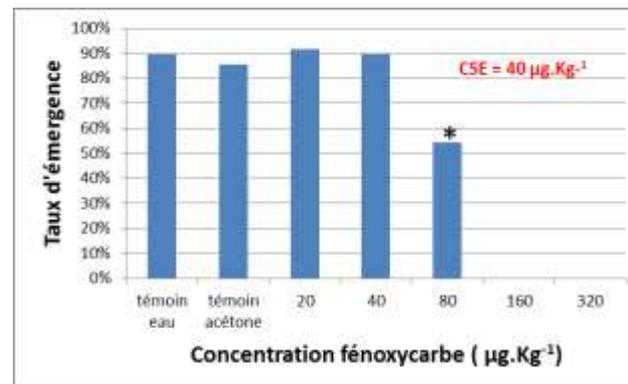
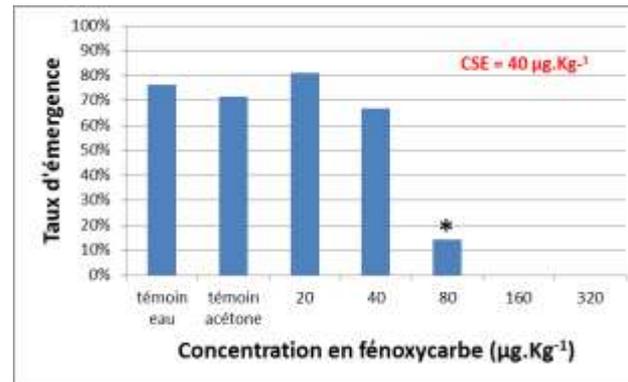
Pourquoi choisir 2 matières actives ?

| molécule | Famille Mode d'action | Type d'effet attendu |
|--|--|---|
| <p>Diméthoate</p>  | <p>Organophosphorés Inhibiteur de la cholinestérase</p> | <p>Effet graduel</p> <p>CE₅₀ : Concentration qui affecte 50% des individus</p>  |
| <p>Fénoxycarbe</p>  | <p>Carbamates Analogue d'hormone juvénile, régulateur de croissance des insectes</p> | <p>Effet seuil</p> <p>CSE : la plus forte concentration qui ne produit pas d'effet significatif comparé au témoin</p>  |

2 exemples de réponses obtenues sur les 13 tests réalisés avec le diméthoate

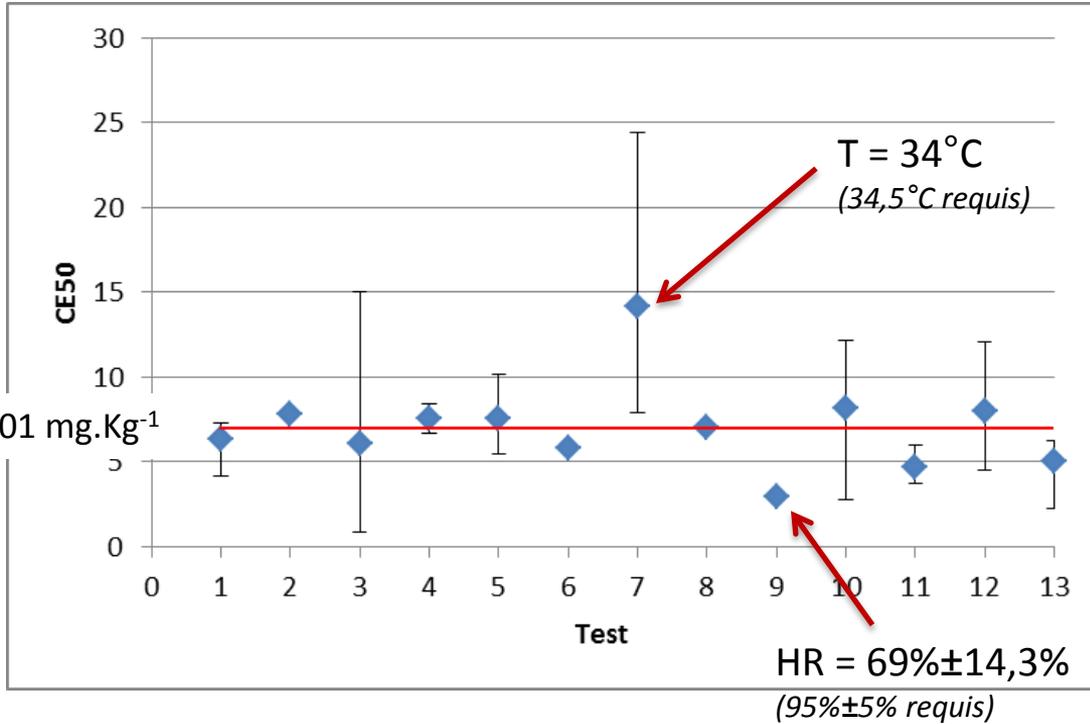


2 exemples de réponses obtenues sur les 13 tests réalisés avec le fénoxycarbe



Résultats diméthoate

CE₅₀ calculées pour les divers tests



Min : 2,92 ; Max : 14,14
(rapport max/min de 5)

Si on exclue les tests 7 et 9
non-conformes :
Min : 4,72 ; Max : 8,14
(rapport max/min de 1,7)

Résultats fénoxcarbe

HR = 69,1% ±14,3%

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Témoins eau | 89.58% | 87.50% | 75.00% | 69.44% | 91.67% | 75.00% | 77.78% | 76.19% | 87.50% | 77.78% | 72.92% | 94.44% | 66.70% |
| Témoins acétone | 85.42% | 87.50% | 75.00% | 83.33% | 93.75% | 58.33% | 72.22% | 71.43% | 81.25% | 88.89% | 72.92% | 94.44% | 72.20% |
| 20 µg.Kg ⁻¹ | 91.67% | 91.67% | 45.83% | 58.33% | 91.67% | 61.11% | 69.44% | 80.95% | 89.58% | 47.22% | 68.75% | 88.89% | 36.10% |
| 40 µg.Kg ⁻¹ | 89.58% | 91.67% | 37.50% | 72.22% | 87.50% | 72.22% | 55.56% | 66.67% | 85.42% | 36.11% | 62.50% | 88.89% | 44.40% |
| 80 µg.Kg ⁻¹ | 54.17% | 47.92% | 33.33% | 36.11% | 77.08% | 19.44% | 2.78% | 14.29% | 39.58% | 36.11% | 12.50% | 47.22% | 33.30% |
| 160 µg.Kg ⁻¹ | 0.00% | 0.00% | 25.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 2.08% | 27.78% | 2.08% | 0.00% | 0.00% |
| 320 µg.Kg ⁻¹ | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% | 0.00% |

Pas de différences significatives entre témoins eau et acétone

CSE = 40 µg.Kg⁻¹ pour 10 tests sur 13 (+ fortes concentrations non significativement différentes des témoins par test Khi²)

La CSE n'a pu être estimée pour 3 tests sur 13 (2 résultats inexplicables)

Les cases jaunes matérialisent les valeurs qui diffèrent significativement des témoins

Valorisation du second test inter laboratoires

Avril 2016 : présentation des résultats du test « exposition répétée » à l'OCDE

Juillet 2016 : publication d'un document guide N° 239

Bilan

1

2004 (début travaux)



2013 : 1^{ère} valorisation OCDE
(TG 237)

9 années dont 4 de recherche

En moyenne : 19 années dont 14 de recherche (Rapport sur l'analyse des impacts des recherches agronomiques, INRA, 2014)

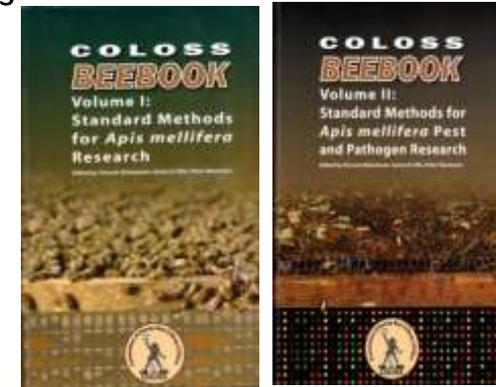


2

Diffusion à une très large échelle OCDE : méthodes d'évaluation du risque pesticide sur couvain d'abeille référencées dans 35 pays membres

3

Utilisation de la méthode à des fins scientifiques : technique de référence recommandée par le communauté scientifique internationale (groupe COLOSS) pour toute étude en laboratoire sur le couvain d'abeille (toxicologie, pathologie...)



Remerciements :

Collaborateurs INRA

D. Fortini, L. Roucher,
B. Michaud, C. Moreau-Vauzelle,
J.N. Tasei, S. Grateau

OCDE

A. Gourmelon, M.C Huet,
P. Pandard

**Département INRA Santé des
Plantes et Environnement
FranceAgrimer**

Partenaires ring test

M. Barth, , J.D. Charriere, M.P. Chauzat, M. Colli,
N. Cougoule, J. Eckert, A. Ehmke, D. Gladbach,
N. Hanewald, M. Janke, , L. Jeker, J. Juliane Vollmann
V. Kilchenmann ,S. Kimmel, K. Kleebaum, C. Maus,
P. Medrzycki, E. PadovaniD. Przygoda,
U. Riessberger-Gallé, S. Royer, S. Shmitzer, F. Shurr,
A. Vincent